

NEUROHISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DEN PARAVERTEBRALEN GANGLIEN VON KAULQUAPPEN

I. HORVÁTH

Institut für allgemeine Zoologie und Biologie der József Attila Universität Szeged, Ungarn

(Eingegangen am 10. Dec 1964.)

Die Entwicklung des vegetativen Nervensystems hat das Interesse der Forscher schon seit langem erweckt. Am besten geeignet für solche Untersuchungen sind frühe Embryonen irgendeiner Tierart. Derartige Untersuchungen sind vorwiegend an Individuen der höherstehenden Wirbeltierklassen angestellt worden.

Unter den Fröschen sind *Rana pipiens* und *Rana palustris* zu experimentellen Untersuchungen bezüglich des vegetativen Nervensystems von Van CAMPENHOUT (1929, 1930) und *Bombinator pachypus* von GREEVEN (1938) herangezogen worden (4, 5, 6). Die Ergebnisse der beiden Forscher stimmen darin überein, dass der primäre Grenzstrang von der ventrolateral von der Chorda dorsalis sich ausbreitenden neuralen Leiste herrührt. Nach GREEVEN gelangen die Zellen des Grenzstranges — als Sympathikoblasten — aus dem *Ggl. spinale* entlang der Fasern des *Nervus spinale* zu ihrem ursprünglichen Ort. Nach dieser Feststellung hat der *Truncus sympathicus* ektodermalen Ursprung. Auf Grund ihrer an Embryonen höherer Wirbeltiere durchgeführten Untersuchungen betrachten BALFOUR (1877), TELLO (1925), Van CAMPENHOUT (1936), ROJAS und SZEPESENWOL (1940), STAUDACHER (1940) und RAYBUCK (1956) — in Übereinstimmung mit den vorerwähnten Autoren — den sympathischen Grenzstrang als ektodermalen Ursprungs, wogegen ALKALÁ-SANTAELLA (1934) an Hand seiner Untersuchungen an Hühnerembryonen zu der Feststellung gelangt, dass die sympathischen Nervenzellen aus dem Mesoderm hervorgehen (3).

Material und Methoden

Versuchsobjekte waren *Pelobates fuscus fuscus*- und *Rana ridibunda*-Kaulquappen, die während der Vermehrungsphase zu verschiedenen Malen gesammelt wurden. Die Determinierung der Tiere erfolgte auf Grund der artspezifischen Merkmale, der Hornzähne und Chromatophoren. Die gesammelten, in verschiedenen Entwicklungsphasen stehenden Tiere wurden teils zwecks histologischer Färbung in BOUIN'scher bzw. HEIDENHAIN'scher (Susa) Fixierflüssigkeit, und teils zur Imprägnierung in 10%igem neutralen Formalin fixiert. Orientierende Vorversuche wurden mit Hämatoxylin-Eosin-, MALLORY- und GÖMÖRI-BANGMANN-scher Färbung unternommen und die neurohistologischen Präparate mit dem BIELSCHOWSKY-ÁBRAHÁM- (1), BIELSHOWSKY-GROS- (2) und dem AGDUHR (11) Verfahren hergestellt.

Die Histologie des *Truncus sympathicus*

Um die Gewebelemente des in Entwicklung begriffenen *Truncus sympathicus* studieren zu können, wurden verschieden grosse und verschieden alte Kaulquappen nach den bereits erwähnten Verfahren zu Längs- und Querschnitten aufgearbeitet. Von den Silbermethoden wurde — insbesondere bei ganz jungen Exemplaren — die AGDUHR'sche Totalimprägnation angewandt. Bei den grösseren bzw. entwickelteren Exemplaren — 10–20 mm lang — wurde um der besseren Versilberung halber die *Aorta dorsalis* und ihre Umgebung vorsichtig herauspräpariert und dann entweder ebenfalls Totalimprägnierung oder Versilberung von Gefrierschnitten vorgenommen.

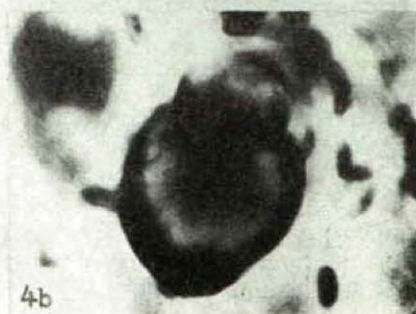
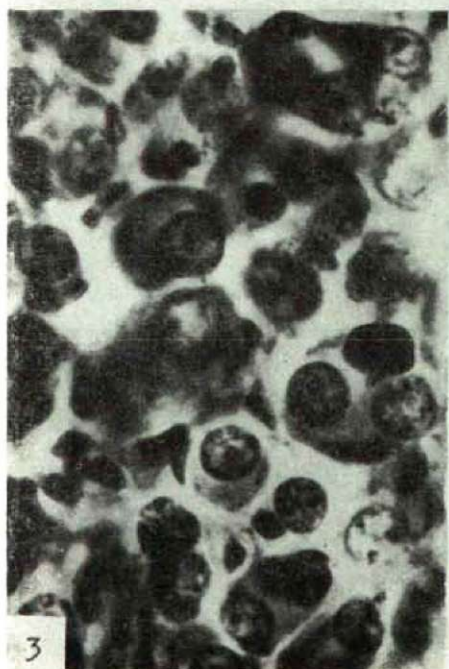
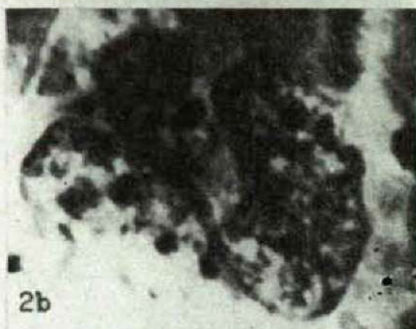
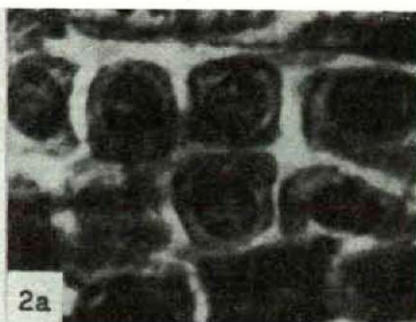
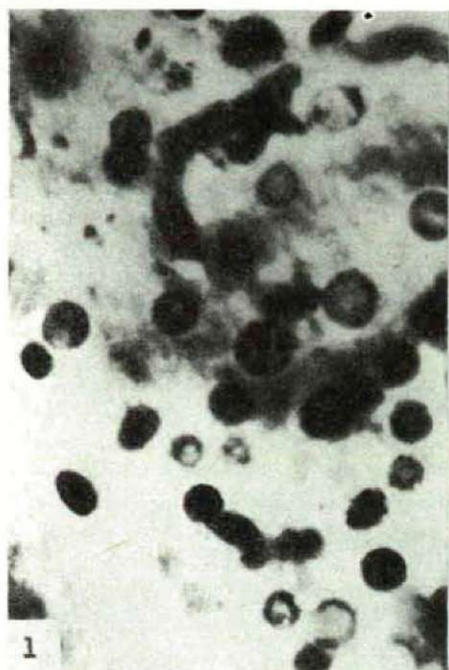
Auf Grund der erhaltenen Präparate ist folgendes festzustellen. Der primitive, in Entwicklung begriffene Grenzstrang schmiegt sich kaudal von V. Wirbel der abdominalen Region eng der Wand der *Aorta dorsalis* an, und liegt kranial nahe dem *Ggl. spinale*. Neben ihm bilden verschieden grosse Sympathicoblasten lockere oder massivere Gruppen. Ihre Grösse hängt davon ab, zur Innervation wie grosser Gebiete sie im Laufe der Entwicklung lokal vegetative Nervenfasern abgeben werden. Die Sympathicoblastzellen haben in den verschieden entwickelten Kaulquappen eine Grösse von 2–8 μ ; ihre Form ist meistens rund oder viereckig, ihr Kern rund oder oval, fast das ganze Zytoplasma ausfüllend. Die Zellen stehen nicht im Zusammenhang miteinander (Tafel I, Abb. 1). Bei der Verfolgung des Entwicklungsganges der Sympathicoblasten zeigt sich, dass am Rande der Zellmassen einige 24–32 μ grosse Nervenzellen zustande kommen, deren Kerne zwischen 14 und 18 μ variieren (Tafel I, Abb. 2a).

Die grossen primären Nervenzellen sind von winzigen Sympathicoblasten umgeben, die auch nach der Metamorphose noch vereinzelt anzutreffen sind, während sie in grösserer Entfernung von den Zellen in ganz grossen Mengen vorkommen können. Neben den primitiven Nervenzellen entstehen neuere grosse Nervenzellen, die später eine kompaktere Nervenzellgruppe bilden. Die Kerne der primär entstandenen Riesen-Nervenzellen lassen verschiedene Entwicklungsstadien unterscheiden (Tafel I, Abb. 2b). Hier kommt es aus den kleinen, dunkelgefärbten *Granula* allmählich zur Entstehung von Nukleolen und dann zur weiteren Kernbildung, und zwar so, dass im Laufe der Differen-

Tafel I.

- Abb. 1.: *Pelobates fuscus* (Kaulquappe): Sympathicoblasten aus dem Grenzstrang neben der *Aorta abdominalis*. AGDUHR-Verf. 2025 \times .
 Abb. 2a.: *Rana ridibunda* (Kaulquappe): In Entwicklung begriffene grosskernige, primäre Nervenzellen aus dem Grenzstrang neben der *Aorta abdominalis*. BIELSCHOWSKY—ABRAHÁM-Verf. 1375 \times .
 Abb. 2b.: *Pelobates fuscus* (Kaulquappe): Vergrösserter Nervenzellkern aus dem Grenzstrang neben der *Aorta abdominalis*. BIELSCHOWSKY—ABRAHÁM-Verf. 1714 \times .
 Abb. 3.: *Pelobates fuscus* (Kaulquappe): Mehrkernige Nervenzellen in dem einen Ganglion des Grenzstranges neben der *Aorta abdominalis*. AGDUHR-Verf. 842 \times .
 Abb. 4a.: *Pelobates fuscus* (Kaulquappe): Der amitotischen Teilung vorausgehende Kernumwandlung in einer mehrkernigen Zellen des Grenzstranges neben der *Aorta abdominalis*. AGDUHR-Verf. 842 \times .
 Abb. 4b.: *Pelobates fuscus* (Kaulquappe): Amitotische Teilung einer Nervenzelle des Grenzstranges neben der *Aorta abdominalis*. AGDUHR-Verf. 842 \times .

Tafel I.



zierung der *Granula* zunächst in der Regel gleichzeitig zwei runde Kernchen von 2–3 μ Grösse zustande kommen, die sich in dem Riesenzellkern zu 5–10 μ grossen Kernen entwickeln. Einer von ihnen — oder auch beide zugleich — schnüren sich von dem primären Riesenzellkern ab, um in das Zytoplasma der Riesenzelle zu wandern, wo sie weiterwachsen und so mehrkernige Nervenzellen entstehen (Tafel I, Abb. 3 und 4a). Im grossen Kern der primären Nervenzelle entstehen neuere Nukleoli, was unbedingt darauf schliessen lässt, dass in den in Entwicklung begriffenen Nervenzellkernen die Anwesenheit der zur Synthese der kernbildenden Elemente erforderlichen Enzyme besonders wichtig ist. Ausserdem muss auch der Kern mit dem Zytoplasma in sehr enger Beziehung stehen, um einerseits die zu den Kernprozessen, und andererseits die zum Wachstum der in das Zytoplasma eingewanderten sekundären Nervenzellkerne benötigte Energie zu sichern. Hier sei erwähnt, dass die *Granula* der sich differenzierenden, primären, grossen Nervenzellen sich verschieden intensiv und in verschiedenen Farben färben. Je nach den Entwicklungsstadien zeigen sie anfangs gleichermassen oxynophile Färbung. Später, wenn die Differenzierung der Nukleoli beendet ist, färben sich — mit Ausnahme des Nukleolus — Kern und Zytoplasma der Zelle basophil. Eingehendere histochemische Untersuchung der während der Entstehung der Nervenzellen im Kern vor sich gehenden physiologischen Prozesse dürften die Beantwortung der Frage gestatten, welche Beziehung im Laufe der Ontogenese zwischen den DNS-Granula des Kernes und den RNS-Granula des Nukleolus bestehen. Zweifellos können auch die Untersuchungen der sich in den Nervenzellen abspielenden biochemischen Prozesse — von den sich entwickelnden Sympathicoblasten bis zu den reizerzeugenden und reizleitenden Nervenzellen — noch zahlreiche ungeklärte neurozytologische Probleme beantworten.

Wieviel sekundäre Nervenzellkerne sich aus dem oben erwähnten primären Kern entwickeln, ist wegen der ständigen Wanderung der in verschiedenen Entwicklungsstadien befindlichen Organellen innerhalb der Zelle schwer zu entscheiden. Wahrscheinlich vermögen die primären Zellkerne mehrere Nervenzellkerne hervorzubringen, da die primären Zellkerne nach dem Austreten der beiden sekundären Kerne noch immer ein weit grösseres Volumen haben als der Kern einer ausgewachsenen vegetativen Ganglienzelle. Daher ist anzunehmen, dass die wichtigste Aufgabe der primären Riesennervenzellen die Vermehrung der Zellen ist.

Die weitere Durchsicht der Präparate liess auch feststellen, dass in den innerhalb des Zytoplasmas der Nervenzelle aus dem ursprünglichen grossen Kern entspringenden kleineren Nervenzellkernen zwei weitere Nukleoli zur Entwicklung gelangen, doch dürfte die weitere Zweiteilung dieser Kerne schon nicht innerhalb der primären Zelle stattfinden. Ich sah auch in dem Kern der Ganglienzellen des *Truncus sympathicus* vollentwickelter, aber noch relativ junger, 2–3-jähriger Frösche (*Rana ridibunda*) häufig zwei Nukleoli (7), demnach dürften diese, zwei Nukleoli enthaltenden Nervenzellen bei ausgewachsenen Tieren später noch weiterer Teilungen fähig sein.

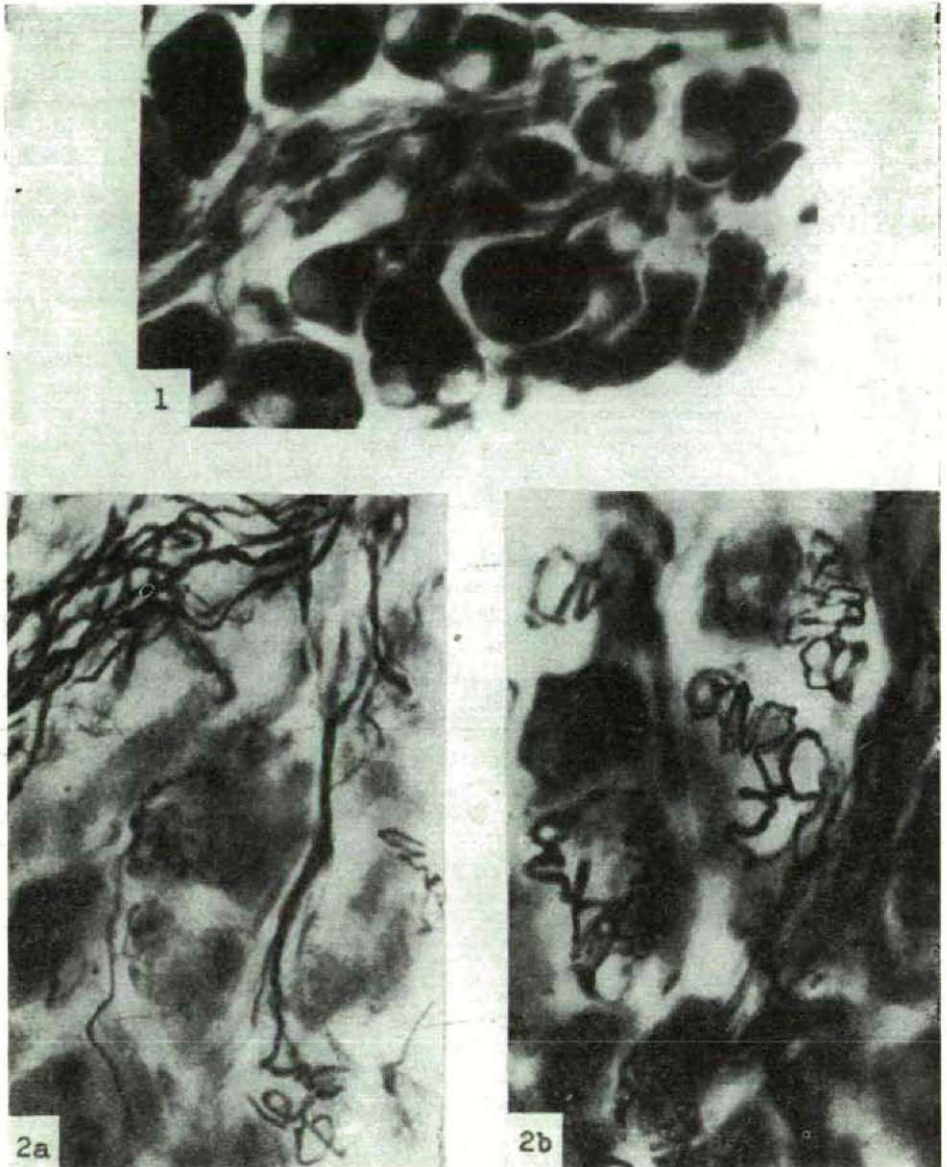
Ich habe auch das Schicksal der im Zytoplasma der Ganglienzellen des in Entwicklung begriffenen *Truncus sympathicus* der extremitätenlosen Kaulquappen von *Pelobates fuscus* Platz nehmenden Zellkerne verfolgt. Die aus dem primären Zellkern entsandenen sekundären Kerne schnüren sich nach ihrer Entwicklung mit einer sehr geringen Zytoplasmamasse zusammen von der

ursprünglichen Nervenzelle ab. Im Laufe der Mitose behält in den meisten Fällen der Kern der abgeschnürten kleinen Zelle die für den entwickelten Kern charakteristische Struktur bei. Nachdem er die Zelle verlassen hat, zeigt er — ähnlich wie die aus den Sympathicoblasten hervorgegangenen primären Riesenkerne — ein kompaktes, aber wesentlich kleineres, dunkel imprägniertes Bild. Vereinzelt sah ich auch, dass der Zellkern noch intrazellulär seine originale Gestalt verloren hatte und in der von der Nervenzelle ausgestülpten Vakuole — nach der Umwandlung der Zellkernsubstanz — zusammen mit der Vakuole von den Zellmembran abgeschnürt wird (Tafel I, Abb. 4b). Der Austritt der in der ursprünglichen Zelle zurückbleibenden Kerne übrigen geschieht auf ähnliche Weise. In fixierten Präparaten kann natürlich nicht einwandfrei festgestellt werden, ob der in der primären Zelle sichtbare, runde oder hufeisenförmige Zellkern die neuere Zweiteilung des grossen Urkernes, oder aber einen der aus der Nervenzelle austretenden sekundären Nervenzellkerne darstellt. Nach der geschilderten amitotischen Zellteilung beginnen dann die aus den Urnervenzellen entstandenen Kerne als neue, selbständige Nervenzellen zu wachsen. Die so zustande kommenden sekundären Nervenzellen haben runde oder — wegen Platzmangels — viereckige Gestalt und — wie schon erwähnt — gewöhnlich zwei Nukleoli, während in den Ganglienzellen des *Truncus sympathicus* der ausgewachsenen Tiere die Kerne meistens nur einen Nukleolus enthalten. Dies lässt darauf schliessen, dass die sekundären Nervenzellen später noch eine amitotische Teilung erfahren. Ein Beispiel hierfür findet sich auch in Abb. 3 von Tafel I, einige kleinere Nervenzellen sichtbar werden, deren ganzes Zytoplasma sozusagen von den beiden Kernen ausgefüllt ist.

Das Erscheinen von Nervenfasern erblickte ich zuerst bei dem schon erörterten sekundären Nervenzellen, die aus den primären Riesen-Nervenzellen amitotisch hervorgehen. Diese sekundären Nervenzellen bringen gleichzeitig mit ihrer Entwicklung ein *Axon* hervor, an dem allmählich auch die Ausbildung der SCHWANN-schen Membran stattfindet (Tafel II, Abb. 1). Nach der amitotischen Teilung der unipolaren, sekundären Nervenzellen kommen die definitiven, tertiären Nervenzellen zustande, welche bereits in ganz frühem Alter über einen Fortsatz verfügen. Das Erscheinen des Fortsatzes der unipolaren Nervenzellen fällt zeitlich ungefähr mit der Entwicklung der Extremitäten zusammen. Bei den primären Nervenzellen setzt die Faserbildung erst ein, wenn auch schon der letzte überschüssige Kern die Zelle verlassen hat. In den Ganglien des sympathischen Grenzstranges der in verschiedenen Entwicklungsstadien befindlichen Kaulquappen kommen die obigen Umwandlungsformen massenhaft nebeneinander vor.

Auf Grund meiner Beobachtungen möchte ich noch erwähnen, dass an der Ursprungsstelle des *Truncus sympathicus* in den sensiblen Ganglien des neben dem verlängerten Mark befindlichen Ggl. *prooticum* (V.—VI.—VII. Hirnnerv), sowie in dem extrakranialen sensiblen *Vagus*-Ganglion (Ggl. *jugulare*), im Ggl. *spinale* und in den zum Zentralnervensystem gehörenden Geweben bei den gleich-entwickelten Kaulquappen die Nervenzellen viel schneller zur Entwicklung gelangen als die Nervenzellen im *Truncus sympathicus*. Im Ggl. *prooticum*, im Ggl. *jugulare* und im Ggl. *spinale* kommen die unipolaren Nervenzellen neben den Neuroblasten schon dann in grosser Zahl vor, wenn an den Stellen der Grenzstrangganglien nur mehr-minder grosse Sympathicoblasten, bzw. vereinzelt primäre Riesen-Nervenzellen anzutreffen sind. In den

Tafel II.



- Abb. 1.: *Pelobates fuscus* (Kaulquappe): Synapsenlose unipolare Nervenzellen in einem Ganglion des Grenzstranges neben der *Aorta abdominalis*. AGDUHR-Verf. 752 \times .
- Abb. 2a.: *Pelobates fuscus*: Eine Synapse mit kleinem Transmissionsfeld an einer Nervenzelle des Ggl. *sympathicum* V. AGDUHR-Verf. 1315 \times .
- Abb. 2b.: *Pelobates fuscus*: Grosse perizelluläre Synapse an einigen Nervenzellen des Ggl. *sympathicum* V. AGDUHR-Verf. 845 \times .

Ganglien des sich entwickelnden *Truncus sympathicus* finden sich wahrscheinlich deshalb schon im Frühstadium zahlreiche Nervenfasern, weil sie vermutlich aus dem Zentralnervensystem stammen (8, 9). Zur Beweisführung dieser bedingten Schlussfolgerungen habe ich die Ganglienanlagen des verlängerten Marks und des *Ggl. jugulare* mittels Elektrokaustik exstirpiert, ihre Aufarbeitung ist im Gange, über die Ergebnisse soll an anderer Stelle berichtet werden.

In den Ganglien des Grenzstranges ausgewachsener Frösche finden sich — wie erwähnt — unipolare Nervenzellen. An den Nervenzellen werden für die Art charakteristische, die ganze Zelle umgebende, ausgedehnte perizelluläre Synapsenfasern sichtbar. Den Ursprung dieser synaptischen Fasern konnte ich auf experimentellem Wege bis zu einem gewissen Grade erweisen (8). An den Nervenzellen der Kaulquappen beginnen die erwähnten grossen Synapsen sich nach der Metamorphose zu entwickeln. Bei der Untersuchung der Ganglien des Grenzstranges halb- und einjähriger ausgewachsener Exemplare fand ich, dass an jeder einzelnen Nervenzelle des *Truncus sympathicus* die Synapsen bei den etwa ein Jahr alten, geschlechtsreifen Tieren vollkommen zur Entwicklung gelangen (Tafel II, Abb. 2a und 2b).

Zusammenfassung

Die Ergebnisse der an den Ganglien des *Truncus sympathicus* der in verschiedenen Stadien der Metamorphose befindlichen Kaulquappen (*Rana ridibunda*, *Pelobates fuscus fuscus*) durchgeführten histologischen und neurohistologischen Untersuchungen lassen sich kurz folgendermassen zusammenfassen:

1. Die ontogenetische Entwicklung der vegetativen Nervenzellen im *Truncus sympathicus* der beiden untersuchten Froscharten weist weitgehende Ähnlichkeit auf.
2. Die Nervenzellen des vegetativen Grenzstranges gehen aus den von der neuralen Leiste abstammenden Sympathicoblasten hervor.
3. Aus den Sympathicoblasten entstehen im Anfangsstadium der Entwicklung grosskernige, primäre Riesen-Nervenzellen.
4. In dem grossen Kern der primären Nervenzellen entstehen drei — eventuell auch mehr — sekundäre Nervenzellkerne, die später ins Zytoplasma wandern. Von hier schnürt sich ein jeder der Kerne zusammen mit etwas Plasma ab und bildet die sekundären Nervenzellen.
5. Der Kern der sekundären Nervenzellen enthält meistens zwei Nukleoli, so dass es möglich ist, dass diese durch weitere amitotische Teilung auch noch tertiäre Nervenzellen entstehen lassen.
6. Das Auftreten von Nervenfasern im sich entwickelnden *Truncus sympathicus* war erst bei den sekundären Nervenzellen zu beobachten.
7. Die bei den Ganglienzellen des *Truncus sympathicus* der ausgewachsenen Frösche beobachteten grossen, perizellulären Synapsen beginnen sich bei den Kaulquappen zu Ende der Metamorphose herauszubilden.

Schrifttum

1. ÁBRAHÁM, A.: The comporotiv histology of the stellate ganglion. Acta Biol. Acad. Sci. Hung. 2. p. 311. 1951.
2. ÁBRAHÁM, A.: Az aortaideg szerkezete és végződésformái a kutya artériás törzseiben. Ann. Biol. Univ. Hung. Pars Szegediensis, 1. p. 325. 1952.
3. ALKALA—SANTAELLA: Le sympathique dans les premières périodes du développement. Arqu. Anat. e Antrop. 16. p. 179—191. 1934.
4. CAMPENHOUT, E. van: Contribution to the problem of the origin and development of the sympathetic nervous system. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 26. p. 824—825. 1929.
5. CAMPENHOUT, E. van: Historical survey of the development of the sympathetic nervous system. Quart. Rev. Biol. 5. p. 23—50. 1930.
6. GREEVEN, R.: Beobachtungen über die erste Entwicklung des sympathischen Grenzstranges bei *Bombinator pachypus*. Morph. Jb. 82. p. 431—452. 1938.
7. HORVÁTH, I.: Histologische Untersuchungen an den paravertebralen Ganglien von *Rana ridibunda*. Acta Biol., Nova series. 8. p. 135—142. 1962.
8. HORVÁTH, I.: Untersuchungen an den paravertebralen Ganglien von *Rana ridibunda*. Acta Biol., Nova series. 9. p. 117—125. 1963.
9. HORVÁTH, I.: Die mikroskopische Innervation des Darmkanals der Kaulquappen. Acta Biol., Nova series. 10. p. 93—97. 1964.
10. STÖHR, PH. Jr.: Mikroskopische Anatomie des vegetativen Nervensystems. IV/5. Springer Berlin—Göttingen—Heidelberg, 1957.
11. SZÜTS, A.: Az ép és kóros szövettani vizsgálatok módszere. Budapest, 1936.